

**LIPOPHILE INHALTSSTOFFE  
AUS  
STEREUM HIRSUTUM  
UND  
STEREUM SUBTOMENTOSUM**

**Inaugural-Dissertation**  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
des Fachbereichs Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Günther Meier**  
aus Berlin

Berlin 1976



**LIPOPHILE INHALTSSTOFFE  
AUS  
STEREUM HIRSUTUM  
UND  
STEREUM SUBTOMENTOSUM**



**Inaugural-Dissertation**  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
des Fachbereichs Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Günther Meier**  
aus Berlin

Berlin 1976



Referent : Professor Dr. H. Rimpler  
Korreferent : Professor Dr. K. Rehse

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juni 1976

Druck: Zentrale Universitätsdruckerei, V a A 4

Meinen Eltern gewidmet



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

## Vorwort

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin unter Leitung von Herrn Professor Dr. Rimpler durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Rimpler, möchte ich sowohl für die Anregung zu diesem Thema als auch für seine großzügige Förderung und für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat, herzlich danken.

Ferner danke ich Frau H. Pistor für die gründliche Einführung in die Methodik der Arbeit, für ihre wertvollen Ratschläge und Herrn Bernhard Neumann für seine Mitarbeit bei der Beschaffung der Drogen und der Auswertung der Ergebnisse.

Den Mitarbeitern am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie, die sich um die Erfüllung meiner Wünsche bemühten, gilt mein herzlicher Dank.



## Inhaltsverzeichnis

|                                                                                                         | Seite |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. Einleitung und Problemstellung                                                                       | 9     |
| 2. Literaturteil                                                                                        | 10    |
| 2.1. Systematik der Stereum- Arten                                                                      | 10    |
| 2.2. Morphologie und Anatomie von Stereum<br>hirsutum und Stereum subtomentosum                         | 12    |
| 2.3. Bisherige Untersuchungen über die Inhalts-<br>stoffe der Stereum- Arten                            | 14    |
| 2.4. Physikalische Methoden zur Strukturauf-<br>klärung von Steroiden                                   | 16    |
| 2.4.1. Massenspektren                                                                                   | 16    |
| 2.4.2. Kernresonanzspektren                                                                             | 24    |
| 2.4.3. Infrarot- Spektren                                                                               | 24    |
| 2.4.4. Ultraviolett- Spektren                                                                           | 25    |
| 3. Eigene Untersuchungen; Hauptteil                                                                     | 26    |
| 3.1. Chromatographische Prüfung des Hexan-<br>und Äther- Extraktes                                      | 27    |
| 3.2. Inhaltsstoffe von Stereum hirsutum                                                                 | 28    |
| 3.2.1. Isolierung und Auftrennung der Steroid-<br>fraktion aus Stereum hirsutum                         | 28    |
| 3.2.2. Identifizierung von Ergosterin aus<br>Stereum hirsutum (Sthi 3)                                  | 30    |
| 3.2.3. Identifizierung von Stigmasterin aus<br>Stereum hirsutum (Sthi 2)                                | 34    |
| 3.2.4. Versuche zur Trennung eines Triterpen-<br>oder Steroidgemisches aus Stereum<br>hirsutum (Sthi 1) | 37    |
| 3.2.5. Versuch des Nachweises der Hirsutsäure C<br>in Stereum hirsutum und Stereum<br>subtomentosum     | 40    |
| 3.3. Inhaltsstoffe aus Stereum subtomentosum                                                            | 41    |

|                                                                                              | Seite |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 3.3.1. Isolierung und Auftrennung des<br>Hexan-/Äther-Extraktes aus Stereum<br>subtomentosum | 41    |
| 3.3.2. Charakterisierung von Stsu 1 aus Stereum<br>subtomentosum                             | 42    |
| 4. Eigene Untersuchungen: Experimenteller Teil                                               | 43    |
| 4.1. Allgemeine Angaben                                                                      | 44    |
| 4.2. Inhaltsstoffe von Stereum hirsutum                                                      | 47    |
| 4.2.1. Extraktion der Droge                                                                  | 47    |
| 4.2.2. Eigenschaften des Steroids Sthi 2<br>(Stigmasterin)                                   | 49    |
| 4.2.3. Eigenschaften der Substanz Sthi 3<br>(Ergosterin)                                     | 50    |
| 4.2.4. Eigenschaften des Steroid- oder<br>Triterpengemisches Sthi 1                          | 52    |
| 4.3. Inhaltsstoffe aus Stereum subtomentosum                                                 | 53    |
| 4.3.1. Extraktion der Droge                                                                  | 53    |
| 4.3.2. Eigenschaften des Steroid- oder<br>Triterpengemisches Stsu 1                          | 54    |
| 5. Diskussion                                                                                | 55    |
| 6. Zusammenfassung                                                                           | 57    |
| 7. Literaturverzeichnis                                                                      | 58    |
| 8. Lebenslauf                                                                                | 61    |

## 1. Einleitung und Problemstellung

Die Systematik der Pilze ist zur Zeit im Umbruch begriffen. Die älteren künstlichen Systeme der Klassifizierung sind in vieler Hinsicht unbefriedigend, und es wird daher versucht, sie durch ein natürliches phylogenetisches System zu ersetzen. Dazu ist es notwendig, möglichst viele verschiedene Merkmalskategorien einzelner Sippen zu untersuchen und zu vergleichen, um aus der Summe ähnlicher Merkmale auf den Grad der natürlichen Verwandtschaft dieser Sippen zu schließen. Als Merkmalskategorien kommen bei Pilzen im Wesentlichen makromorphologische, sporenmorphologische, anatomische und chemische Merkmale in Betracht. Bisher sind - vor allem aus methodischen Gründen - vorwiegend morphologische Untersuchungen im weitesten Sinne durchgeführt worden. (2,5, 6,7) Besonders in den letzten Jahren hat aber aufgrund der Entwicklung leistungsfähiger Trennverfahren und der Vereinfachung der Strukturaufklärung durch spektroskopische Methoden die Untersuchung der Inhaltsstoffe und damit die Berücksichtigung chemischer Merkmale an Bedeutung gewonnen. (40)

Im Rahmen dieser Arbeit haben wir uns zum Ziel gesetzt, chemosystematische Untersuchungen an Pilzen durchzuführen. Als Studienobjekt wählten wir die Gattung *Stereum* (Stereaceae- Aphyllophorales). Diese Gattung wird besonders von Pouzar (1959) in mehrere kleine Gattungen aufgespalten, während andere Autoren die Aufspaltung für nicht gerechtfertigt halten. Eine eindeutige Klärung scheint aufgrund morphologischer Merkmale allein, nicht möglich zu sein. Kenntnisse über die Struktur der Inhaltsstoffe könnten jedoch eine solche Entscheidung ermöglichen. Wir versuchten daher aus den Fruchtkörpern zweier *Stereum*- Arten die Inhaltsstoffe, welche in größeren Mengen vorhanden sind, zu isolieren und zu identifizieren.

## 2. Literaturteil

### 2.1. Systematik der Stereum- Arten

Im künstlichen System der Mykologen des 19. Jahrhunderts waren alle Aphyllophorales mit glattem Hymenium in der Familie der Thelephoraceae untergebracht. Auch in Englers Syllabus der Pflanzenfamilien (10) stehen die damals noch als Subtribus genannten Stereae unter sieben Tribus in der Unterreihe der Hymenomycetinae und in der Familie der Thelephoraceae. Stereum und ähnliche Gattungen wurden 1930 von Pilat ausgegliedert (1) und in eine Familie Stereaceae gestellt. Jedoch auch die Stereaceae nach Pilat umfassen zum Teil noch verschiedenartige Elemente, die nach der Ansicht moderner Autoren in einem natürlichen System nicht beieinander stehen bleiben können. Aus großen künstlichen Gattungen, wie Thelephora, Stereum und Corticium, in denen früher die "stereoiden Pilze" (8) untergebracht waren, wurden zahlreiche kleinere, übersichtlichere und natürliche Gattungen ausgegliedert.

Unter stereoiden Pilzen versteht man ein- oder mehrjährige, Holz bewohnende, hauptsächlich saprophytische Basidienpilze mit glattem Hymenium, die wenigstens mit einem Teil ihres dünnen ledrigen Fruchtkörpers dem Substrat flächenhaft aufgewachsen sind. Der Rand ist meistens abgelöst und bildet häufig, so zum Beispiel bei Stereum hirsutum, eine vom Holz abstehende Hutkante. Charakteristisch für die Stereaceae wird von den meisten Autoren eine zwischen dem Haarfilz der Oberseite (Tormentum) und dem Hymenium liegende Schicht von Hyphen angesehen, die der Hutkante oder dem Substrat mehr oder weniger parallel verlaufen. Von ihr leitet sich der deutsche Name "Schichtpilze" ab.

Mehrere Taxonomen sind auch der Ansicht, daß eine eigene Familie für die Stereum- artigen Pilze keine Berech-

tigung hat. Donk (11) wies darauf hin, daß es nicht möglich sei, eine scharfe Trennlinie zwischen den Stereaceae und den Corticiaceae zu ziehen.

E. Parmasto (12) unterscheidet zwischen monomitischen Gattungen, bei denen die Trama nur aus einer Art von Hyphen, den generativen Hyphen, aufgebaut, und den dimitischen Gattungen, bei denen die Trama außer aus den generativen Hyphen noch aus Skeletthyphen besteht. Die monomitischen Gattungen *Laxitextum* und *Chondrostereum* werden zu den Corticiaceae gegliedert. Es verbleibt eine verkleinerte Familie der Stereaceae. Einige dimitische Gattungen werden obendrein auch noch ausgegliedert und zu einer neuen Familie, den *Steccherinaceae*, zusammengestellt.

Neueste Arbeiten benutzen den Namen Stereaceae für eine riesige Familie innerhalb der Aphyllophorales. J.A. von Arx (13) faßt alle Gattungen mit amyloiden Sporen, H. Kreisel (14) zahlreiche Gattungen mit di- und trimitischen Hyphensystemen zu der Familie der Stereaceae zusammen. Nach Ansicht von H. Jahn (8) sind die riesigen Familien nicht genug begründet worden, da sie sich nur auf ganz wenige gemeinsame Merkmale der in ihnen zusammengefaßten Gattungen stützen. Der Name Stereaceae ist vieldeutig geworden und wird in verschiedenem Sinne benutzt.

## 2.2. Morphologie und Anatomie von Stereum hirsutum (Willd.) und Stereum subtomentosum (Pouzar)

*Stereum hirsutum* (zottiger Schichtpilz), dessen Hauptvegetationsperiode von Juli bis November dauert und der hauptsächlich am Holz und an der Rinde von Laubbäumen wächst (1), ist ein Pilz mit lederartigem, zähem, teils ausgebreitetem, teils mit der oberen Hälfte abstehendem am Rande welligem Fruchtkörper mit an der äußeren Seite grob abstehendem, haarigem hellhäutigem (später im Alter mehr gebräuntem) Hütchen, dessen Rand scharf und gelblich ist. Das Hymenium ist glatt, orange bis ockerfarben, später aber blasser und gräulicher werdend. Die Basidien sind farblos, dicht palisadenartig gedrängt, mit zwei oder vier Sterigmen. Die Trama setzt sich aus parallelen, dünnwandigen, fast farblosen Hyphen zusammen. Ein Teil dieser Hyphen biegt sich nach oben um und dringt in die Subhymenial- und in die Hymenialschicht in der Form von sehr dickwandigen Pseudocystiden ein. Es handelt sich hier um ein dimitisches Hyphensystem. Die Cystiden haben ein sehr enges Lumen, das sich nur am Ende durch Verdünnung der Zellmembran erweitert. Die Rindenschicht ist goldgelbbraun und aus fast verklebten Hyphen zusammengesetzt. Man findet länglich elliptische, nach einer Seite etwas abgeflachte, farblos dünnwandige Sporen.

*Stereum hirsutum* ist auf der nördlichen Halbkugel in der gemäßigten Zone allgemein verbreitet. Bei uns in Mitteleuropa ist sie die gewöhnlichste Art der gesamten Gattung und verursacht eine ziemlich intensive Holzfäulnis (Pilat 1930).

Die Variabilität des Fruchtkörpers von *Stereum hirsutum* ist sehr groß und zum Teil abhängig von der Art des Substrates. Pilat (1) faßt in seiner Monographie folgende in der Literatur erwähnten Formen von *Stereum hirsu-*

tum zusammen: f. resupinata (Massee), f. Neuwirthi (Valenovsky), f. crassa (Bourdot et Galzin), f. pilosiusculum (Thiemen), f. faginea (Pilát), f. hemiorbiculare (Pilát), f. rotundum, setiosum, ciliatum, badium, luteo-citrinum (Pilát).

*Stereum subtomentosum* (samtiger Schichtpilz) bildet freistehende, etwa zwei bis vier Zentimeter vom Holz abstehende fächer- oder muschelförmige Einzelfruchtkörper, die hinten zusammengezogen und oft mit deutlichem, holzigem Stielchen angewachsen sind. Im Verhältnis zur Größe ist er auffallend dünn, im frischen Zustand ledrig, getrocknet starr. Die Oberseite ist dicht kurzhaarig, feinsamtig konzentrisch gezont, anfangs ockergelb bis rotbräunlich, später verblassend. Der Fruchtkörper wächst nach Überwinterung weiter; der vorjährige Teil ist dann schmutzig grau, der neuere Teil dann wieder ockerfarbig. Alte Fruchtkörper sind oft mit Grünalgen besetzt. Die Hyphen der Trama sind dicht gewebt, die Mehrzahl dickwandig. Im Hymenium bilden sich dicht gedrängte, farblose Pseudocystiden aus und Zystidiolen, die ein aufgesetztes Spitzchen besitzen. Die Basidien tragenden Hyphen sind im Gegensatz zu den Pseudocystiden tragenden Hyphen fast verschwindend klein. Das Hyphensystem ist dimitisch.

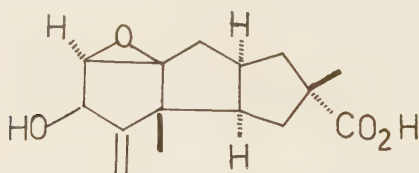
*Stereum subtomentosum*, dessen Hauptvegetationsperiode in nördlichen Gegenden von Juni bis Herbst dauert und der hauptsächlich in Auenwäldern, in feuchten Bachtälern an *Alnus*-Arten, *Betula*, *Carpinus*, *Fagus* und *Populus* wächst, kann leicht mit *Stereum hirsutum* verwechselt werden. Die Behaarung ist aber kürzer und gleichmäßiger, der Fruchtkörper dünner als bei *Stereum hirsutum*. Das Stielchen ist oft ein guter Hinweis auf *Stereum subtomentosum*.

Von früheren Autoren (1) wurde er oft als *Stereum fasciatum* bezeichnet. Erst Pouzar (9) stellte für diesen Pilz einen neuen Artnamen auf, da er sich von *Stereum fasciatum* durch eine andere Wirtswahl und durch das Fehlen der Pseudoacanthophysen unterscheidet.

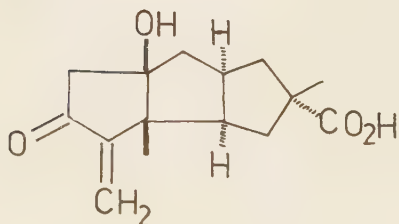
### 2.3. Bisherige Untersuchungen über die Inhaltsstoffe der Stereum- Arten

Aus *Stereum hirsutum* wurden von Heatley, Jennings und Florey 1946 zwei Sesquiterpene isoliert und charakterisiert (2): Hirsutsäure C und Hirsutsäure N. Die vollständige Strukturaufklärung von Hirsutsäure C unter Zuhilfenahme der Röntgenstrukturanalyse gelang im Jahre 1966 Comer, Capra, Qureshi et a. (3,4)

1972 sind nach einer Totalsynthese Formeln für die Hirsutsäure N aufgestellt worden, (42) die Identität mit der ursprünglich gefundenen konnte aber nicht nachgewiesen werden.



Hirsutsäure C

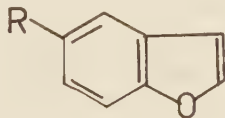


Hirsutsäure N

Hirsutsäure N und C sind jedoch bei späteren Arbeiten in *Stereum hirsutum* nie wieder gefunden. Es ist, wie auch schon von anderen Autoren vermutet, anzunehmen, daß es sich bei der von Heatley, Jennings et a. bearbeiteten Droge nicht um *Stereum hirsutum* gehandelt haben kann.

1973 gelang P.G. Mantle und G. Mellows der Nachweis zweier Substanzen aus *Stereum complicatum* (Fr) (= *Stereum rameale* Schw.) Die eine Substanz war identisch mit Hirsutsäure C; die andere, von ihnen "complicatic acid" genannt, war vermutlich identisch mit der 1946 gefundenen Hirsutsäure N. (5)

Bei einer Untersuchung der mit Wasserdampf flüchtigen Bestandteile von *Stereum subpileatum* isolierten 1956 Birkinshaw, Chaplin und Findley Zimtaldehyd, Zimtsäure und 5-Methoxycumaron. (6) Weitere Benzofurane mit verschiedenen Seitenketten wurden 1970 bei einer eingehenden Untersuchung von *Stereum subpileatum* (Berk und Curt) von Bu'Lock, Kaye und Hudson gefunden. (7)



- R= OH
- = CHO
- = CH<sub>2</sub>OH
- = COOH
- = CHOH•CHOH•CH<sub>3</sub>
- = CO•CHOH•CH<sub>3</sub>

Bei neueren Reihenuntersuchungen (40) der Fruchtkörper von Polyporaceae, Stereaceae und verwandten Familien wurden Ergosterin, 5,6-Dihydroergosterin und zahlreiche Triterpene isoliert. Das meist verbreitete Steroid war Dihydroergosterin. Es war in fast allen untersuchten Pilzen vorhanden.

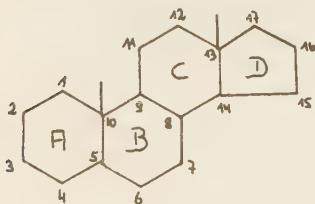
## 2.4. Physikalische Methoden zur Strukturaufklärung von Steroiden

### 2.4.1. Massenspektren

Die Deutung der Massenspektren von Steroiden bereitet häufig Schwierigkeiten, da bei der Spaltung des alicyclischen Grundskeletts Zwischenabbauprodukte entstehen, die zu Umlagerungsreaktionen neigen, die oft nur schwer zu durchschauen sind. Außerdem können Substituenten bei gleichem Grundgerüst zu einer völligen Änderung der Hauptsplaltungsreaktionen führen. Eine weitere Erschwernis bei der Deutung der Spektren ist die Tatsache, daß nach der Bildung der Abbauprodukte eine weitere Vielzahl von Bruchstücken vergleichbarer Intensität entsteht. Erst bei Gegenwart entsprechender Substituenten wird hauptsächlich nur eine Molekülionenart gebildet, womit die Voraussetzung zur Entstehung strukturspezifischer Schlüsselbruchstücke gegeben ist. (18)

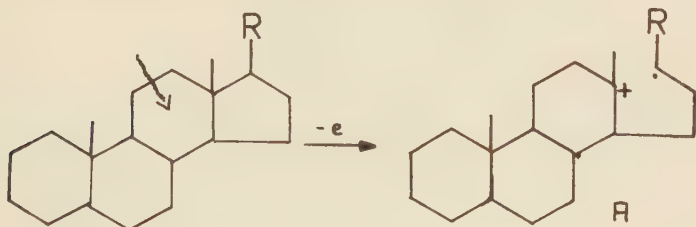
Diese Tatsache läßt sich dadurch erklären, daß bei Steroiden häufig leicht ionisierbare Gruppen fehlen und die Unterschiede in der Ionisationswahrscheinlichkeit an Kohlenstoffatomen in vielen Fällen nur gering sind. Demzufolge entstehen mehrere Arten von Molekülionen mit vergleichbarer Wahrscheinlichkeit. Sind Substituenten vorhanden, die eine leichte Ionisation hervorruufen, wird bevorzugt lediglich eine einzige Molekülionenart gebildet.

In einem unsubstituierten Steroid erfolgt die Spaltung



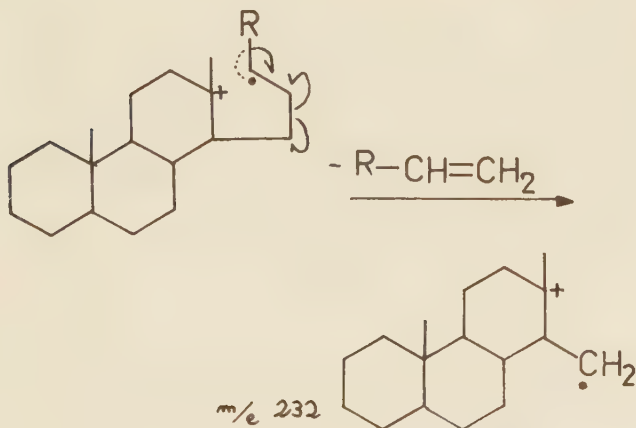
bevorzugt an den von den quartären Kohlenstoffatomen 10 und 13 ausgehenden Bindungen. Die Eliminierung einer angulären Methylgruppe führt zur Bildung eines Fragmentes  $M^+ - 15$ .

Ferner entstehen Hauptabbauprodukte durch Bruch der Bindungen zwischen C<sub>1</sub> und C<sub>10</sub>, C<sub>9</sub> und C<sub>10</sub>, C<sub>13</sub> und C<sub>17</sub>, sowie C<sub>12</sub> und C<sub>13</sub>. Je länger die Kette am C<sub>17</sub> ist, umso leichter erfolgt die Spaltung zwischen C<sub>13</sub> und C<sub>17</sub>.



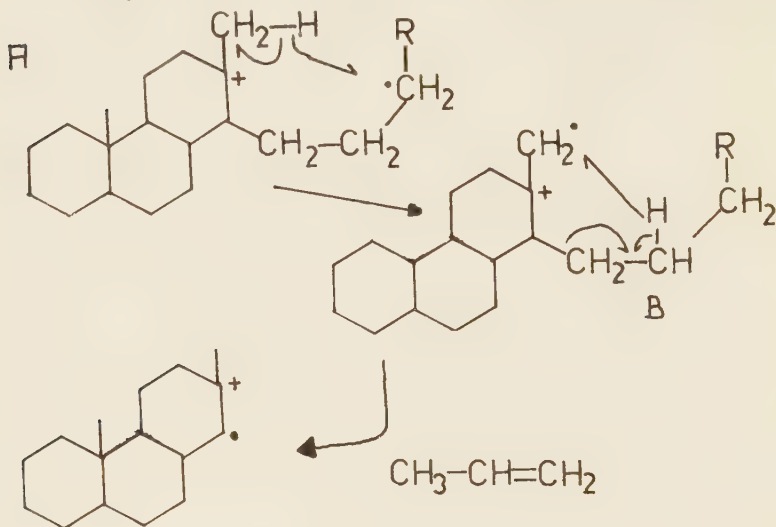
Es entsteht Primärspaltprodukt (Radikalkation) A. Der weitere Abbau des Primärspaltproduktes kann verschieden verlaufen:

1. Radikalkationbildung nach Eliminierung eines stabilen Olefinmoleküls ohne Umlagerungsreaktionen:



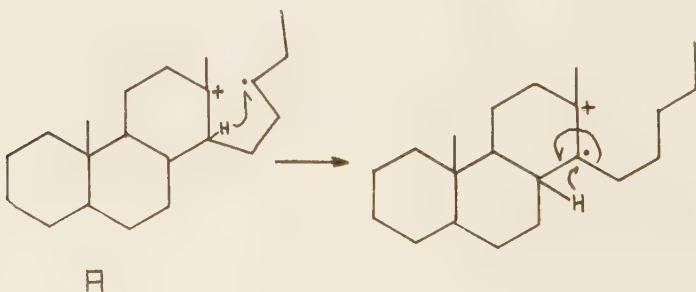
2. Radikalkationbildung durch von Umlagerungen begleiteten Abbaureaktionen:

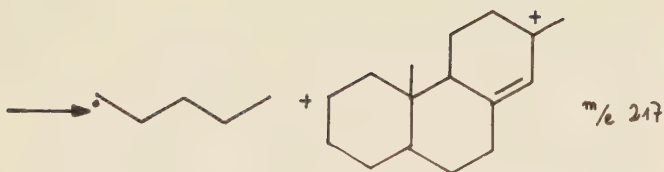
Das einsame Elektronenpaar am C<sub>17</sub> ist dabei bestrebt, einer räumlich benachbarten C-H-Gruppe ein H-Atom zu entreißen.



Das positive Ladungszentrum am C<sub>13</sub> aktiviert die benachbarten C-H-Bindungen und macht sie so einem Angriff des Radikals am C<sub>17</sub> besonders leicht zugänglich. Durch Wasserstoffumlagerung vom C<sub>14</sub> oder C<sub>18</sub> entsteht Radikalkation B, das wiederum unter weiterer Wasserstoffverschiebung zu dem Ion m/e 218 zerfällt.

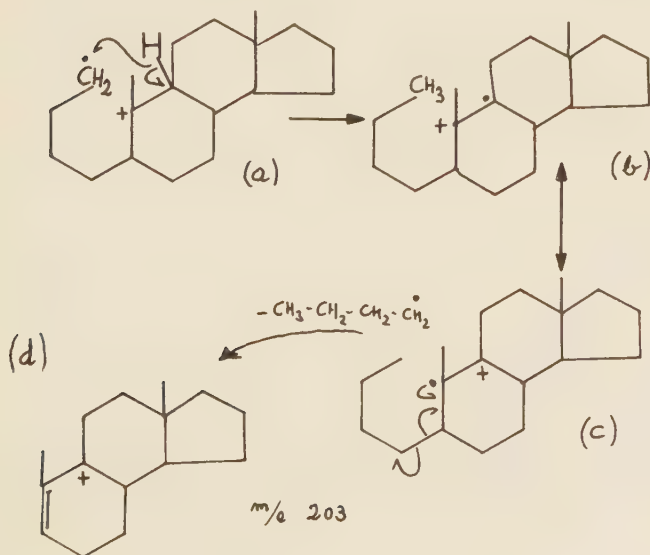
Aus dem Primärspaltprodukt A kann auch nach folgendem Schema das Ion m/e 217 entstehen:





Im Verlauf dieser Reaktion finden zwei spezifische Wasserstoffumlagerungen statt, die erstmalig von Djerassi und Mitarbeitern an Pregnan- und Cholestanmolekülen durch Verwendung von deuteriertem Wasserstoff entdeckt worden sind. Der durch das positive Ladungszentrum am  $C_{13}$  aktivierte Wasserstoff des  $C_{14}$  wandert zum  $C_{17}$ . Es entsteht ein Radikalkation mit stark substituierter, ionisierter Doppelbindung. Die anschließende 1,2-Wasserstoffverschiebung vom  $C_8$  zum  $C_{14}$  und Öffnung der Bindung  $C_{14}-C_{15}$  ergibt ein  $C_5$ -Radikal und ein Allylion mit  $m/e\ 217$ .

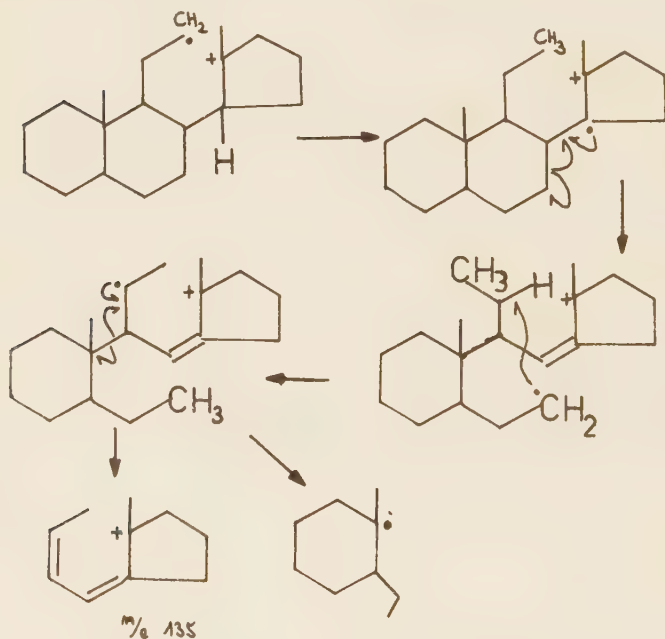
Weitere wichtige Abbauprodukte entstehen durch primären Bruch der Bindung  $C_1-C_{10}$



Dabei bedeuten:

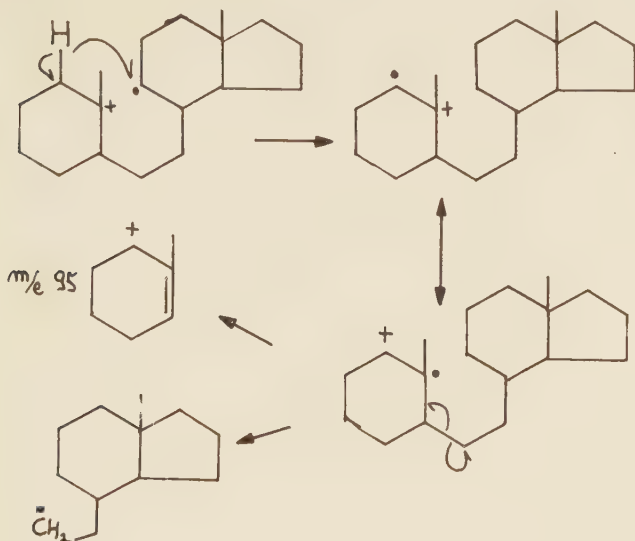
- a) Primärspaltprodukt
- b) Aktivierung des Wasserstoffs in Position 9
- c) Eliminierung der Kohlenstoffatome  $C_1-C_4$
- d) Spaltprodukt m/e 203

Eine weitere Zerfallsreaktion geht vom Bruch der  $C_{12}-C_{13}$ -Bindung in einem am  $C_{13}$  ionisierten Molekül aus. Spitteller- Friedmann gibt folgende Abbaureaktionen an (18):

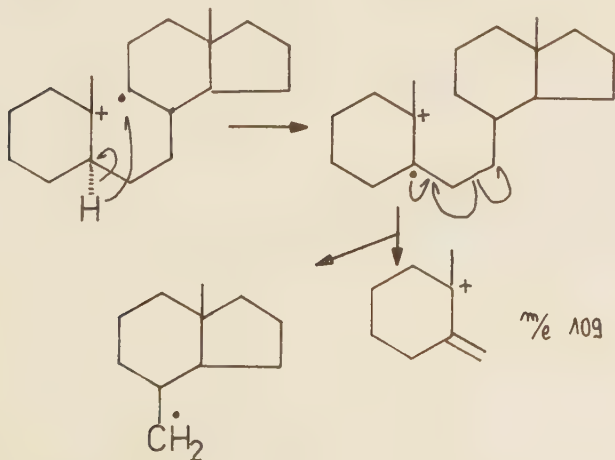


Nach der Entstehung des Primärspaltproduktes lagert der sich am  $C_{14}$  aktivierte Wasserstoff zum  $C_{12}$  um. Es folgt der Bruch der Bindung  $C_7-C_8$ , Rückumlagerung des Wasserstoffs aus Stellung 11, nachfolgende Spaltung  $C_9-C_{10}$ .

Andere wichtige Abbauprodukte entstehen durch Spaltung der Bindung C<sub>9</sub>-C<sub>10</sub>:



Nach der Entstehung des Primärsplaltproduktes bringt eine Wasserstoffübertragung aus Stellung 4 an die radikalische Stelle am C<sub>9</sub> die Spaltung der C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>- Bindung; oder eine Wasserstoffübertragung aus Stellung 5 an die radikalische Stelle am C<sub>9</sub> bringt Spaltung der C<sub>6</sub>-C<sub>7</sub>- Bindung und erklärt die Ionen der Massen 109 und 95.



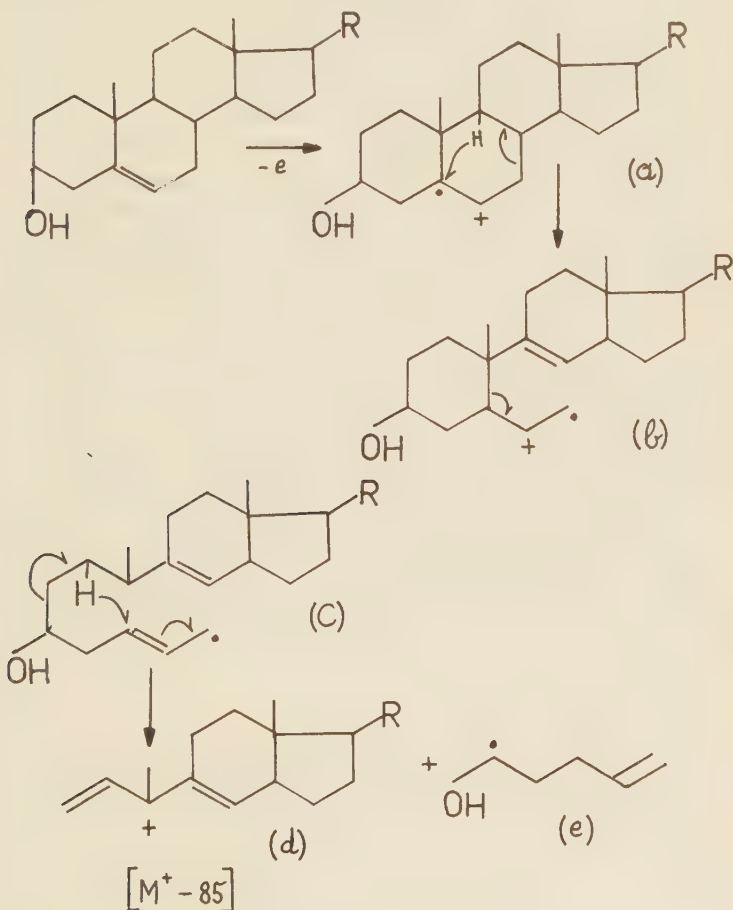
Von großer Bedeutung für die Lösung stereochemischer Probleme ist die Beobachtung, daß in vielen Fällen bestimmte Spaltungsreaktionen je nach Art der Verknüpfung zweier Ringsysteme (cis oder trans) mit unterschiedlicher Wahrscheinlichkeit eintreten. Trotzdem ist es sehr schwer, die Stereochemie eines unbekannten Steroids allein aus den Massenspektren abzuleiten.

Die Anwesenheit von Hydroxylgruppen an den Ringen A und B beeinflußt die Bruchstückbildung meist nur unwesentlich. Die Schlüsselbruchstücke werden teilweise zu um 16 Masseneinheiten höheren Massenzahlen oder, da eine Wasserabspaltung oft leicht erfolgt, um 2 Masseneinheiten nach tieferer Massenzahl verschoben. Eine zusätzliche Doppelbindung führt lediglich zu einer Massenabnahme der Schlüsselbruchstücke um 2 Masseneinheiten.

Zwischen Stereoisomeren bestehen in der Tendenz zur Wasserabspaltung oft beträchtliche Unterschiede. Bei einer Cis- Verknüpfung der Ringe A und B tritt bei 3-Hydroxysteroiden eine Wasserabspaltung viel eher ein als bei einer Trans- Verknüpfung; die Stellung der Hydroxygruppe (axial oder äquatorial) hat dagegen einen wesentlichen geringeren Einfluß (18,19). Die Wasserabspaltung aus Steroiden ist hauptsächlich davon abhängig, wie nahe die Hydroxylgruppe einem Wasserstoff einer räumlich günstig gelegenen, möglichst aktivierten CH-Gruppe benachbart ist (20). Die Neigung zur Wasserabspaltung in Dihydroxysteroiden mit Hydroxylgruppen an benachbarten C-Atomen ist stark eingeschränkt, wenn zwischen den Hydroxylgruppen die Ausbildung von Wasserstoffbrücken möglich ist. Der Einfluß von Doppelbindungen auf die Bruchstückbildung ist nicht sehr groß. Eine Ausnahme bilden die 3-Hydroxy- $\Delta^5$ -Steroide. Hier dürfte sich der Molekülzerfall folgendermaßen abspielen:

a) Wanderung des Wasserstoff vom C<sub>9</sub> zum C<sub>5</sub>, gleichzeitig Auftrennung der C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub>- Bindung b). Die daraufhin folgende heterolytische Spaltung der C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>- Bindung führt zu einem Allyl- Radikal am C<sub>5</sub>, bzw. C<sub>7</sub> und zu einem tertiären Carbonium- Ion, am C<sub>10</sub>. (c)

Durch Wasserstoffwanderung vom C<sub>1</sub> zum C<sub>5</sub> unter gleichzeitiger Lösung der C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>- Bindung entsteht dann ein stabiles Carbonium- Ion (d) und ein stabiles Radikal (e) (Spiteller- Friedmann, Spiteller).



#### 2.4.2. Kernresonanzspektren

Kernresonanzspektren von Steroiden zeigen für die Methylenprotonen der Ringe eine breite, nicht aufgelöste Signalgruppe, in der Signalzuordnungen nicht möglich sind.

(21) Nach Neudert und Röpke (22) hat der Komplex von  $\text{CH}_2$ -Signalen (Methylenberg) zwar eine variable Form und zeigt viele Maxima, doch reagiert diese Form sehr empfindlich auf Veränderungen der Konstitution. Klare Zusammenhänge zur Struktur sind bisher noch nicht erkannt worden. Erst durch funktionelle Gruppen oder Substitutionseffekte können einzelne Protonensignale aus diesem unübersichtlichen Methylenberg verschoben werden und sind dann einer Interpretation zugänglich.

Keine große Mühe bereitet das Erkennen der angulären Methylgruppen. Sie liefern scharfe, leicht erkennbare Singulettts, und ihre Lagen lassen sich mit Hilfe empirischer Regeln vorausberechnen (22). Methylgruppen an tertiären Kohlenstoffatomen in einer Seitenkette geben auch gut erkennbare Signale. Die chemische Verschiebung hängt von der Substitution in der Umgebung ab, wobei die Einflüsse auch über größere Entfernungen reichen können (23). Signale von  $\text{CH}_2$  Gruppen, die OH-Substituenten tragen oder sich in Nachbarschaft von Mehrfachbindungen befinden, liegen außerhalb des normalen Bandenbereiches der  $\text{CH}_2$ -Gerüstresonanzen. Olefinische und aromatische CH-Gruppen zeigen Signale im Bereich zwischen 2 und 6 ppm. Einen Hinweis auf die mögliche Lage der Doppelbindung im Gerüst bieten neben der Bandenlage auch der Grad der Signalaufspaltung, bzw. eine eventuelle Spin-Kopplung.

#### 2.4.3 Infrarot- Spektren

Ein IR- Spektrum einer Substanz kann man mit einem Fingerabdruck vergleichen, da die Anregungsenergien nahezu

aller Atombewegungen (Valenz- und Knickschwingungen) im IR- Bereich liegen (25). Auch zwei sehr ähnliche Verbindungen werden mit größter Wahrscheinlichkeit unterschiedliche IR- Spektren haben. Von einer bestimmten C-Zahl an weichen allerdings die Spektren nur noch so wenig voneinander ab, daß die Erkennung stark von der Reinheit der Substanzen und dem Auflösungsvermögen der Spektrographen abhängen (24).

Das Auftreten oder Fehlen bestimmter Schlüsselbanden ist ein sicherer Hinweis für das Vorliegen oder die Abwesenheit von entsprechenden Atomgruppierungen in der Verbindung. Im Übrigen gelten für Steroide dieselben Zuordnungsregeln wie für andere chemische Verbindungen. (24)

#### 2.4.4. Ultraviolett- Spektren

Die UV- Absorption einer organischen Verbindung wird durch Übergänge vom Grundzustand in die Anregungszustände hervorgerufen. Weil nun aber viele vom Aufbau her verschiedenartige Verbindungen mit gleichartigen UV- aktiven Gruppen existieren, so gibt es auch sehr viele Substanzen mit identischen UV- Daten. Das UV- Spektrum ist also nur für eine Substanzklasse mit gleichem chromophorem System, nicht aber speziell für eine bestimmte Substanz typisch. Diese Mehrdeutigkeit eines UV- Spektrums erfordert dadurch eine Erhärtung der erhaltenen Konstitutionshinweise durch andere Untersuchungsmethoden. (24)

### 3. Eigene Untersuchungen

#### Hauptteil

### 3.1. Chromatographische Prüfung des Hexan- und Äther- Extraktes

Für die DC- Analyse lipophiler Verbindungen vom Steroidtyp haben sich die Laufmittelgemische Benzol- Aceton und Cyclohexan- Essigester als geeignet erwiesen (26). Die gleichen Laufmittel wurden für die Dünnschichtchromatographie des Hexan- und Äther- Extraktes von *Stereum hirsutum* und *Stereum subtomentosum* verwandt. Dabei zeigte sich, daß beide Pilze mehrere dünnschichtchromatographisch nicht identifizierbare Stoffe enthielten. Durch Ansprühen mit Vanillin- Schwefelsäure- Reagenz ließen sich mehrere gut getrennte Flecke sichtbar machen. Ein Vergleich der Chromatogramme beider Pilzarten deutete auf eine Ähnlichkeit der Inhaltsstoffe, doch stand von vornherein fest, daß eine hundertprozentige Übereinstimmung nicht zu verzeichnen war.

### 3.2. Inhaltsstoffe von Stereum hirsutum

#### 3.2.1. Isolierung und Auftrennung der Steroidfraktion aus Stereum hirsutum

Zur Isolierung der Steroidfraktion boten sich zwei verschiedene Extraktionsmethoden an:

- a) Extraktion mit siedendem Äthanol und Auftrennung in einen lipophilen und hydrophilen Anteil durch Säulenchromatographie an Celite mit Hexan, Methylenchlorid und Methanol.
- b) Sofortige Extraktion mit Äther bei Zimmertemperatur, anschließende Bearbeitung der Droge mit Aceton und Methanol zur Gewinnung der hydrophilen Fraktion.

Die zweite Methode erwies sich vor allen Dingen zur Gewinnung der Farbstoffe und Carotinoide, die sich im Pilz in recht großem Maße anfinden, als die schonendere.

Die Dünnschichtchromatographie des Hexan-/Äther-, bzw. Hexan-/Methylenchlorideluats ergab drei voneinander deutlich unterscheidbare Flecke bei Stereum hirsutum. Sie erhielten die Arbeitsbezeichnung Sthi 1-3.

Zur Isolierung dieser Verbindungen wurden die Bedingungen der Dünnschichtchromatographie auf die präparative Säulenchromatographie übertragen.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Ausbeute und den Schmelzpunkt der drei in Stereum hirsutum gefundenen Substanzen.

| Arbeitsbezeichnung | Ausbeute in % der<br>lufttrockenen Droge | Schmelzintervall<br>Grad/C |
|--------------------|------------------------------------------|----------------------------|
| Sthi 1             | 0,008                                    | 178-180                    |
| Sthi 2             | 0,009                                    | 169-172                    |
| Sthi 3             | 0,02                                     | 108                        |

Das Laufmittel 2 diente vorwiegend zur Abtrennung des im Hexan- Eluat gefundenen Carotinoid- Gemisches. Diese Substanzen liefen aufgrund ihrer wesentlich größeren Lipophililität vor.

### 3.2.2. Identifizierung von Ergosterin aus Stereum hirsutum (Sthi 3)

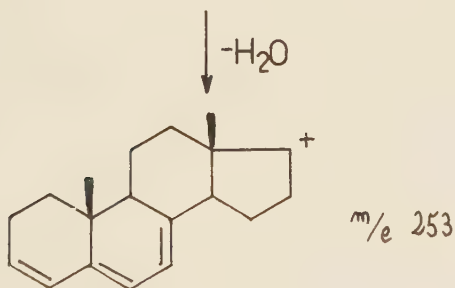
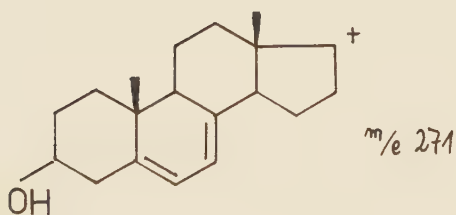
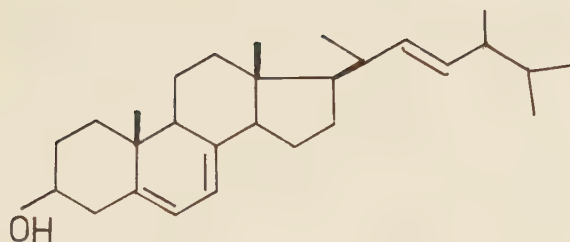
Die Substanz Sthi 3 konnte schon bei der ersten säulen-chromatographischen Feintrennung des Hexan-/Äther-, bzw. Hexan-/Methylenchlorid- Eluats kristallin erhalten werden. Zur Identifizierung der Verbindung wurden spektroskopische Methoden herangezogen.

Aus dem Massenspektrum ergibt sich ein Molekulargewicht von 396 für die Hauptkomponente; daneben war noch ein kleinerer Peak bei  $m/e$  398 zu erkennen. Das Gaschromatogramm bestätigt das Vorliegen einer zweiten Verbindung. Nach der Molmasse 398 könnte es sich um das in Aphyllorphorales häufig vorkommende Dihydroergosterin handeln. Das Mengenverhältnis der Substanzen  $m/e$  396 und  $m/e$  398 beträgt ungefähr 10:1.

Neben dem deutlich erkennbaren Molekülpeak beobachtet man durch die Eliminierung einer angulären Methylgruppe die Bildung eines Fragmentes bei  $M^+-15$  und durch Wasser-bspaltung die Bildung eines Bruchstückes bei  $M^+-18$ .

Durch Verlust der Seitenkette entsteht das Ion  $m/e$  271. Die Differenz zum Molekülpeak beträgt 125 Masseneinheiten. Diese Differenz läßt sich unter biogenetischen Gesichtspunkten nur einer Seitenkette mit neun C-Atomen und einem Doppelbindungsäquivalent zuordnen. Das Steroidgrundgerüst muß dann zwei Doppelbindungen und eine OH-Gruppe enthalten. Sthi 3 könnte daher mit Ergosterin identisch sein.

Die charakteristischen, in der Literatur erwähnten Schlüsselbruchstücke (19,20), die beim Zerfall eines Steroidgerüsts entstehen, treten im Massenspektrum



Ergosterin: Verlust der Seitenkette und Wasserabspaltung, Bildung des Fragmentes  $m/e$  253

von Sthi 3 auf.

Das NMR- Spektrum zeigt einen breiten Komplex von sich überlagernden Resonanzen im Bereich von  $\delta$  0,6- 2,5 ppm, wie er in dieser typischen Form von den Methylengruppen eines Steroidgerüsts gebildet wird (22). Zwischen  $\delta$  5,2 und 5,8 finden sich die Signale für vier olefinische Protonen. Den Hinweis auf eine OH-Gruppe liefert ein bei 1,8 ppm liegendes Signal, das nach Zusatz von  $D_2O$  verschwindet. Das mit der OH-Gruppe an demselben C-Atom liegende Proton zeigt ein bei 3,7 ppm liegendes Multiplett. Folgende Signale des NMR- Spektrums lassen sich den ausgezeichneten Protonen eines Hydroxysteroids zuordnen:

|          |   |          |     |
|----------|---|----------|-----|
| 0,68 ppm | s | $C_{18}$ | 3 H |
| 0,9 ppm  | s | $C_{19}$ | 3 H |
| 3,7 ppm  | w | $C_3$    | 1 H |
| 1,85 ppm | m | $C_3-OH$ | 1 H |

Die Signale stimmen mit den in der Literatur für Ergosterin angegebenen Werten gut überein (27).

Im IR- Spektrum fällt die Absorption im Hydroxylbereich ( $3420\text{ cm}^{-1}$ ) auf, die das aus dem NMR- Spektrum vermutete Vorhandensein einer OH-Gruppe bestätigt. Bei  $1650\text{ cm}^{-1}$  finden wir einen Hinweis auf eine Dien-Struktur, bei  $975\text{ cm}^{-1}$  eine Absorptionsbande für olefinische CH-Gruppierungen.

Das UV- Spektrum zeigt Maxima bei 294nm ( $\epsilon = 6000$ ), 282nm ( $\epsilon = 10500$ ), 271nm ( $\epsilon = 10000$ ). Diese Werte zeigen, daß es sich hier um ein Dien handelt. Sie stimmen gut mit den für Ergosterin angegebenen Daten (41) überein.

Die Identifizierung der Substanz Sthi 3 erfolgte durch direkten Vergleich mit authentischem Material (Ergosterin Merck). Die IR- und NMR- Spektren stimmten überein, die Retentionszeiten der Gaschromatogramme waren identisch.

### 3.2.3. Identifizierung von Stigmasterin aus Stereum hirsutum

Sthi 2 ist in Stereum hirsutum nur in sehr geringer Konzentration vorhanden: Aus 1 Kg Droge konnten nur 90 mg isoliert werden. Es kristallisierte aus den Fraktionen nur sehr schwer aus. Umkristallisiert wurde mit Äthanol. Das Schmelzintervall betrug 169-172°C, die Substanz ist optisch aktiv.

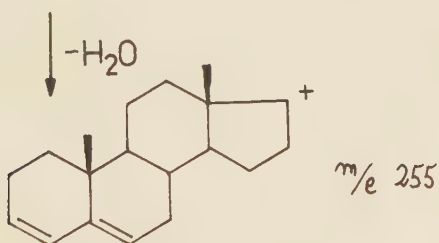
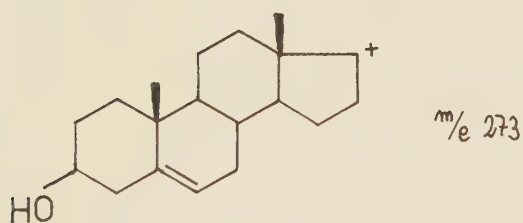
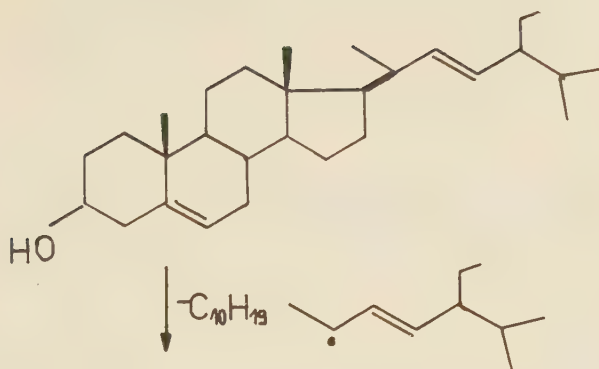
Aus dem Massenspektrum ergibt sich ein Molekulargewicht von 412. Neben dem deutlich erkennbaren Molekülpeak beobachtet man auch hier durch die Eliminierung einer angulären Methylgruppe die Bildung eines Fragmentes bei  $M^+-15$  und ebenso durch Wasserabspaltung die Bruchstückbildung bei  $M^+-18 = m/e$  394. Der Wert  $m/e$  379 erklärt sich aus der Summe der Methyl- und Wasserabspaltungen.

Durch Verlust der Seitenkette entsteht das Ion  $m/e$  273. Die Differenz zum Molekülpeak beträgt 141 Masseneinheiten, was einer Seitenkette mit zehn C-Atomen und einem Doppelbindungsäquivalent zuzuordnen wäre.

Die Schlüsselbruchstücke, die beim Zerfall fast aller Steroide auftreten, treten auch im Massenspektrum von Sthi 2 in entsprechend substituierter Form auf (19,20)

Die Interpretation des Massenspektrums ergibt, daß es sich bei der Substanz Sthi 2 um ein Steroid handelt, das eine OH-Gruppe im Grundskelett trägt und daß sich je eine Doppelbindung im Grundkörper und in der Seitenkette befinden. Die als Schlüsselbruchstücke für  $\Delta^5$ -3-Hydroxysterioide geltenden Ionen  $M^+-85$  und  $M^+-111$  treten auf.

Das NMR-Spektrum bestätigt einen Teil der Aussagen des Massenspektrums. Es zeigt für die Methylenprotonen



Stigmasterin: Abspaltung der Seitenkette,  
anschließende Wasserabspaltung

der Ringe eine breite, nicht aufgelöste Signalgruppe zwischen  $\delta$ 0,6-2,5 ppm, in der Signalzuordnungen nicht oder nur schlecht möglich sind (22,21). Zwischen  $\delta$ 5,0 und 5,5 ppm finden sich die Signale für drei olefinische Protonen. Das zur OH-Gruppe geminale H-Atom zeigt ein bei 3,5 ppm liegendes Multiplett.

Auch im IR- Spektrum finden wir die Bestätigung für das Vorhandensein einer OH-Gruppierung ( $3420\text{ cm}^{-1}$ ); bei  $975\text{ cm}^{-1}$  finden wir eine Absorptionsbande für olefinische CH-Gruppen.

Bei der Zusammenfassung der durch die Spektren ermittelten Ergebnisse und der physikalischen Bestimmungswerte (optische Drehung und Schmelzpunkt) kommt bei einem Vergleich mit in der Literatur angegebenen Werten (28, 29) zu dem Schluß, daß es sich bei der Substanz Sthi 2 um Stigmasterin handelt. Der Wert der optischen Drehung ( $\alpha_D = -51^\circ$ , in  $\text{CHCl}_3$ ) und des Schmelzintervalls ( $170-171^\circ$ ) der Substanz ist jedoch den Werten des  $\alpha$ Spinasterins sehr ähnlich ( $\alpha_D = -37^\circ$ ,  $F_p = 172-173^\circ\text{C}$ ). Da die Schmelzpunkte der beiden Acetate jedoch erheblich voneinander abweichen, ergab erst die Schmelzpunktbestimmung des angefertigten Acetats einen genauen Aufschluß.

Die Acetylierung in Pyridin mit Essigsäureanhydrid ergab ein Monoacetat mit dem Schmelzintervall  $140-144^\circ\text{C}$ . Dieser Wert entspricht dem für Stigmasterinacetat in der Literatur angegebenen Wert.

Einen endgültigen Aufschluß erhielten wir durch einen direkten Vergleich der Gaschromatogramme von Sthi 2 und handelsüblichem Material: Die Retentionszeiten stimmten überein.

### 3.2.4. Versuche zur Trennung eines Triterpen- oder Steroidgemisches aus Stereum hirsutum (Sthi 1)

Die Substanz Sthi 1 zeigte im UV- Bereich keine Aktivität und konnte somit nur mit Hilfe von Sprühreagenzien entdeckt werden.

Das Kernresonanz- und Infrarotspektrum ähnelt denen des Ergosterins und des Stigmasterins. Die Interpretation des Massenspektrums erlaubt jedoch den Schluß, daß es sich bei Sthi 1 um ein Substanzgemisch handelt: es entstehen Massendifferenzen, wie sie bei einer einheitlichen Verbindung nicht vorkommen können. ( $M^+ - 2$ ,  $M^+ - 20$ )

Versuche, das Steroid- oder Triterpengemisch mit Hilfe der Dünnschicht- oder Säulenchromatographie zu trennen, blieben größtenteils erfolglos. Auch die Acetate und Dinitrobenzoate konnten nicht voneinander getrennt werden. Als am meisten Erfolg versprechend erwies sich eine Trennung auf mit Silbernitrat imprägnierten Kieselgelplatten, nachdem die Substanz vorher acetyliert wurde (33,34) Das Ergebnis dieser Versuchsreihe war die Entdeckung, daß das Steroid- oder Triterpengemisch aus mindestens drei Komponenten bestehen mußte, deren präparative Trennung aber wegen ihrer geringen Substanzmenge nicht möglich war.

Eine Bearbeitung dieses Problems mit dem Gaschromatographen ergab folgendes: Es handelt sich um ein Gemisch aus zwei Haupt- und mindestens fünf weiteren in geringerer Menge vorliegenden Komponenten (siehe Abbildung des Gaschromatogramms).

Die Interpretation der Massenspektren erlaubt den Schluß, daß das Gemisch zum größten Teil aus einer Verbindung mit dem Molekulargewicht 428 und zu einem geringeren Teil aus einer Verbindung mit dem Molekulargewicht 426 besteht. Bei der Acetylierung treten im Massenspektrum die entsprechenden um 42 Einheiten höheren Werte  $M^+ = 470$  und  $M^+ = 468$  auf. Da sich die Haupt-



Steroidgemisch  
Sthi 1  
(Gaschromatogramm)

komponenten acetylieren lassen, müssen primäre oder sekundäre OH-Gruppen vorliegen. Die Bestätigung für die Anwesenheit von OH-Gruppen liefert eine breite kräftige Bande im IR- Spektrum bei  $3300\text{ cm}^{-1}$ . Das IR- Spektrum der Acetate zeigt im Bereich der OH-Absorption kein Signal, so daß daraus geschlossen werden kann, daß keine der im Gemisch vorhandenen Verbindungen tertiäre OH-Gruppen enthält. Eine Verbindung ohne Hydroxylgruppe sollte aufgrund der sehr ähnlichen RF- Werte der zwei Hauptkomponenten nicht vorhanden sein.

Das NMR- Spektrum zeigt neben einer breiten, nicht aufgelösten Signalgruppe bei  $\delta 0,9-2,1\text{ ppm}$  für die Methylenprotonen eines Steroids oder Triterpens ein Signal bei  $\delta 5,1\text{ ppm}$ , wie es bei Protonen an Doppelbindungen zu finden ist, und eins bei  $\delta 4,0\text{ ppm}$ , das nach Zusatz von  $\text{D}_2\text{O}$  verschwindet.

Die spektroskopischen Daten legen die Annahme nahe,

daß mit Sthi 1 ein Substanzgemisch aus Steroiden oder Triterpenen gefunden wurde, die eine primäre oder sekundäre OH-Gruppe tragen.

3.2.5. Versuch des Nachweises der Hirsutsäure C  
in Stereum hirsutum und Stereum subtomentosum

Nach der Methode von Heatley, Jennings und Florey (2) wurde mit Amylacetat ein Extrakt hergestellt. Aus diesem Extrakt konnten weder aus Stereum hirsutum noch aus Stereum subtomentosum Kristalle gewonnen werden. Darüberhinaus prüften wir den Extrakt chromatographisch: Doch auch eine Extraktion bei  $P_H$  3 mit Chloroform nach vorangegangener Eliminierung von neutralen und alkalischen Bestandteilen, eine von Mellows, Mantle, Feline und Williams angewandte Methode (39), förderte keine Hirsutsäure zutage. Der Chloroform- Extrakt wurde dabei auf Kieselgel GF 254 mit Isopropanol- Chloroform- Gemisch entwickelt. In dem in der Literatur angegebenen RF-Bereich (39) konnte weder eine Fluoreszenzlösung noch nach Besprühen mit Vanillin- Schwefelsäure- Reagenz ein deutlich sichtbarer Fleck wahrgenommen werden.

### 3.3. Inhaltsstoffe aus Stereum subtomentosum

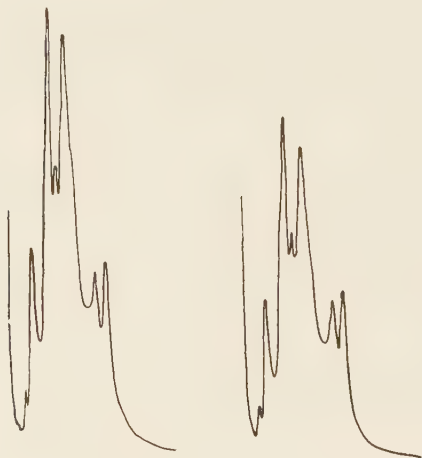
#### 3.3.1. Isolierung und Auftrennung des Hexan-/Äther- Extraktes aus Stereum subtomentosum

Zur Isolierung der Steroidfraktion aus Stereum subtomentosum wurden dieselben Verfahren wie bei Stereum hirsutum angewandt. Wie schon erwähnt, deutete ein Vergleich der Chromatogramme beider Pilzarten auf eine Ähnlichkeit der Inhaltsstoffe hin, doch es war klar zu erkennen, daß Unterschiede zu verzeichnen waren. Das Ergosterin- Dihydroergosterin- Gemisch, das in Stereum hirsutum in recht großer Menge vorlag, konnte nicht mit chromatographischen Methoden nachgewiesen werden. Auch nach Auftrennung des Hexan-, bzw. Äther-Extraktes mit Benzol- Aceton- Fließmittelgemisch waren Ergosterin und Dihydroergosterin nicht zu finden. Stigmasterin konnte auch nach dem Besprühen mit Vanillin- Schwefelsäure- Reagenz nicht entdeckt werden. Bei der chromatographischen Trennung fiel jedoch ein kristallines Substanzgemisch Stsu 1 an, das dünnschichtchromatographisch den gleichen RF-Wert wie das aus Stereum hirsutum isolierte Steroid- oder Triterpenegemisch Sthi 1 hatte. Die Ausbeute in Bezug auf die lufttrockene Droge betrug 0,03%. Stsu 1 zeigte genauso wie Sthi 1 im UV-Bereich keine Absorption; es konnte nur mit Sprühreagenzien entdeckt werden.

3.3.2. Charakterisierung von Stsu 1 aus Stereum  
subtomentosum

Ein Vergleich der Massenspektren der Gemische Sthi 1 und Stsu 1 erlaubt den Schluß, daß es sich hier um nahezu identische Substanzgemische handeln muß. Die Molekulargewichte 428 und 426 gehen deutlich aus den Spektren hervor. Die Spaltprodukte unterscheiden sich nur geringfügig in den Intensitäten, während die Massenzahlen übereinstimmen.

Ein Vergleich der Gaschromatogramme beider Steroid- oder Triterpengemische zeigt, daß Stsu 1 die gleichen Komponenten enthält wie Sthi 1. (Abbildung)



Gaschromatogramm der Steroidgemische Sthi 1 (links)  
und Stsu 1 (rechts)

#### 4. Eigene Untersuchungen

##### Experimenteller Teil

#### 4.1. Allgemeine Angaben

##### a) Drogenherkunft

Die Fruchtkörper von *Stereum subtomentosum* wurden im Sommer 1971 und 1972 von Herrn Nuss vom Institut für systematische Botanik und Pflanzengeographie auf der Pfaueninsel in Berlin gesammelt. Die Fruchtkörper von *Stereum hirsutum* sammelten wir im Sommer 1973 in Berlin-Spandau, Stadtforst, und im Herbst 1973 im Weserbergland, in einem Buchenwald in der Nähe von Höxter. Die Proben zeigten bei makroskopischer und mikroskopischer Betrachtung Übereinstimmung in den morphologischen Merkmalen (1). Die von uns isolierten Stoffe konnten in allen Chargen nachgewiesen werden.

##### b) Chromatographie und Spektroskopie

Zur Dünnschichtchromatographie wurden Platten von 20x20 cm Größe verwendet. Sie wurden für die laufenden Untersuchungen mit einem Streichgerät nach Stahl beschichtet. Die Schichtdicke des Sorptionsmittels (Kieselgel F "Woelm" DC) betrug 0,25 mm. Die in der Arbeit angegebenen RF-Werte beziehen sich wegen der besseren Reproduzierbarkeit auf DC-Fertigplatten Kieselgel F<sub>254</sub> "Merck". Zur Säulenchromatographie wurde Kieselgel "Woelm" (0,05-0,2 mm) verwendet.

Detektion: Als Sprühmittel wurde eine 1%ige Vanillin-Schwefelsäure-Lösung verwendet.

---

Wir danken Herrn Nuss für die von ihm gesammelte und bestimmte und uns überlassene Droge

c) Acetylierung der Steroide, bzw. Triterpene

100 mg der Substanz wurden mit je 5 ml Pyridin und Acetanhydrid 24 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Das Gemisch wurde auf Eis gegossen und dann mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Phase wurde nacheinander mit 0,1n HCl, gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde mit Äthanol umkristallisiert.

UV- Spektroskopie:

Das Absorptionsspektrum wurde mit einem Zeiss- Spektral-  
photometer PMQ 2 aufgenommen. Konzentration des Ergo-  
sterins: 0,396 mg in 10 ml, Quarzküvette mit 1 cm  
Schichtdicke, Lösungsmittel: Hexan (Uvasol "Merck")

IR- Spektroskopie:

Die IR- Spektren wurden mit einem Leitz- Unicam- Spek-  
tralphotometer SP 200 G in KBr- Preßlingen aufgenommen.  
Konzentration: 1mg/150mg

NMR- Spektroskopie: \*

Die Kernresonanzspektren wurden mit dem Spektrometer  
Varian-S-60 aufgenommen. Lösungsmittel:  $\text{CDCl}_3$

Massenspektren: \*

Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte mit dem Mas-  
senspektrographen CH 4 Varian MAT.

Optische Drehung:

Die optische Drehung wurde mit dem lichtelektrischen  
Präzisionspolarimeter 0,005 (Zeiss) bestimmt.

Schmelzpunktbestimmung:

Die Schmelzpunktbestimmung wurde mit einem Kofler-  
Heiztischmikroskop durchgeführt.

---

\* Ich danke Herrn Grelbig und Herrn Lindemann, Institut  
für Pharmazie der Freien Universität Berlin, für die  
Aufnahme der Massen- und Kernresonanzspektren.

## 4.2. Inhaltsstoffe von Stereum hirsutum

### 4.2.1. Extraktion der Droge

1 Kg getrocknetes und mittelfein gepulvertes Pflanzenmaterial wurde einmal mit 5 l siedendem Äthanol und danach dreimal mit je 4 l siedendem Äthanol- Wasser- Gemisch (8:2) 30 Minuten extrahiert. Die vereinigten Extrakte (80g) wurden auf etwa 200 ml eingengt und der Rückstand mit 200 g Celite verrieben. Der an Celite gebundene Extrakt wurde im Vakuum über Kieselgel getrocknet und dann auf eine Celite- Säule (200 g Celite) gegeben. Die Säule wurde mit Hexan, Methylenchlorid, Aceton und Methanol eluiert. Die hydrophilen Fraktionen wurden verworfen.

Für eine Gewinnung der in der Pflanze vorhandenen Carotinoide eignet sich besser das folgende schonendere Verfahren:

1 Kg getrocknetes und mittelfein gepulvertes Material wurde solange mit Hexan und anschließend Äther kalt extrahiert, bis die Extraktionsflüssigkeit nur noch schwach gefärbt war (etwa je 5 l). Die vereinigten Extrakte wurden vollständig eingengt und zur weiteren Verarbeitung nicht an Celite gebunden, sondern in Lösung auf die nächsten Säulen gegeben.

Von nun an wurden beide Extrakte auf gleiche Art und Weise weiter verarbeitet.

Auf einer Kieselgelsäule (150 g) wurde mit Cyclohexan- Essigester- Gemisch (85/15 = V/V) eluiert. Dabei wurden (aus 1 Kg Droge) 32 g Hexan- Methylenchlorid- Extrakt aufgetragen. Die vorlaufenden carotinoidhaltigen Fraktionen wurden verworfen und die folgenden steroidhaltigen Fraktionen wurden jeweils vereinigt.

Die Auftrennung der steroidhaltigen Fraktion erfolgte mit Benzol- Aceton- Gemisch (80/20 = V/V)

Die Substanzen Sthi 1-3 fielen, ihren RF-Werten entsprechend, an.

Das Aussehen der Chromatogramme ist in der folgenden Tabelle beschrieben:

| Arbeitsbe-<br>zeichnung | RF-Wert<br>Laufmittel 1 | RF-Wert<br>Laufmittel 2 | Farbreaktion<br>mit Van./H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------|
| Sthi 1                  | 0,33                    | 0,08                    | blauviolett                                             |
| Sthi 2                  | 0,37                    | 0,22                    | braun                                                   |
| Sthi 3                  | 0,44                    | 0,13                    | blau                                                    |

DC- Prüfung des Hexan-/Methylenchloridextraktes und Nachweis der Verbindungen Sthi 1-3 auf DC- Fertigplatten Kieselgel F<sub>254</sub> "Merck".

Laufmittel 1: Benzol/Aceton = 80/20

Laufmittel 2: Cyclohexan/Essigester = 85/15

#### 4.2.2. Eigenschaften des Steroids Sthi 2 (Stigmasterin)

Weiße Nadeln aus Äthanol

Schmelzpunkt: 169-172°C

Schmelzpunkt des Acetats: 144°C

Molekulargewicht: 412

Optische Drehung:  $\alpha_{40}^D$  -45° (CHCl<sub>3</sub>)

#### IR:

750 w, 810 w, 845 w, 940 w, 965 m, 975 s, 1030 m,  
1060 s, 1090 w, 1115 w, 1135 w, 1160 w, 1190 w,  
1210 w, 1230 w, 1245 w, 1255 w, 1300 w, 1330 w,  
1370 s, 1380 s, 1430 w, 1440 m, 1450 s, 1460 s,  
1630 m, 2860 s, 2880 s, 2920 s, 2950 s, 3400 s,  
3640 w, 3680 w, 3710 w cm<sup>-1</sup>

NMR: (CDCl<sub>3</sub>, 60 MHz)

$\tau$  = 9,3 s, 8,99 s, 6,5 m, 4,87 m, 4,62 m ppm

MS: m/e (% Basispeak), bei 150°C aufgenommen

414 (9,0), 412 (79), 394 (19), 379 (20), 369 (23),  
351 (44), 314 (20), 301 (17), 300 (54), 299 (23),  
273 (29), 271 (84), 270 (25), 267 (21), 255 (98),  
241 (23), 239 (21), 229 (31), 213 (77), 199 (50),  
185 (38), 159 (98), 145 (96), 133 (46), 131 (42),  
105 (80), 83 (70), 81 (68), 55 (100)

Der Vergleich der Spektren von Sthi 2 mit den Spektren des authentischen Stigmasterins ergab Übereinstimmung. Die Retentionszeiten der Gaschromatogramme waren identisch.

#### 4.2.3. Eigenschaften der Substanz Sthi 3 (Ergosterin)

Weiße Nadeln aus Äthanol, weiße Plättchen aus Äther

Schmelzpunkt: 95-108°C

Molekulargewicht: 396 (398 für die das Ergosterin begleitende Substanz)

#### IR:

810 m, 840 m, 940 w, 950 w, 975 s, 990 m, 1045 s,  
1060 s, 1115 w, 1160 w, 1195 w, 1225 w, 1240 w,  
1280 w, 1300 w, 1320 w, 1330 w, 1370 s, 1380 s,  
1430 m, 1460 s, 1630 m, 1650 m, 1660 m, 1680 m,  
2800 w, 2840 m, 2880 s, 2960 s, 3040 w, 3420 s  $\text{cm}^{-1}$

NMR: ( $\text{CDCl}_3$ , 60 MHz)

$\tau$  = 9,35 s, 8,9 s, 6,25 m, 4,75 m, 4,4 m ppm

MS: m/e (% Basispeak) bei 120°C aufgenommen

398 (22), 396 (98), 395 (14), 378 (24), 365 (29),  
364 (62), 363 (98), 339 (17), 338 (34), 337 (91),  
271 (59), 269 (24), 255 (28), 253 (96), 251 (38),  
239 (28), 237 (36), 229 (19), 227 (33), 217 (19),  
213 (45), 211 (84), 199 (53), 197 (62), 185 (52),  
183 (51), 175 (36), 171 (64), 169 (47), 159 (93),  
157 (95), 155 (36), 147 (50), 145 (98), 143 (97),  
141 (38), 133 (47), 131 (60), 129 (43), 121 (33),  
119 (74), 117 (36), 115 (22), 109 (69), 107 (70),  
105 (69), 97 (29), 95 (66), 93 (55), 91 (67), 83 (71),  
81 (98), 79 (48), 77(22), 71 (25), 59 (98), 67 (57),  
57 (53), 55 (100), 43 (78)

UV: (Hexan)

$\lambda_{\text{max}}$  294 ( $\epsilon$  = 6000), 282 ( $\epsilon$  = 10500), 271 ( $\epsilon$  = 10000) nm.

Ein Vergleich der Infrarot- und Massenspektren mit denen einer authentischen Probe ergab Übereinstimmung. Die Retentionszeiten der Gaschromatogramme waren identisch.

4.2.4. Eigenschaften des Steroid- oder Triterpengemisches  
Sthi 1

Weiße Nadeln aus Äthanol

Schmelzpunkt: 178-180°C

Molekulargewichte: 428, 426

IR:

870 w, 925 w, 945 w, 980 m, 1035 m, 1075 w, 1165 w,  
1180 w, 1255 s, 1380 m, 1450 w, 1475 m, 1710 w, 1735 s,  
1920 w, 2848 m, 2870 m, 2920 s, 2950 s, 3440 s  $\text{cm}^{-1}$

MS: m/e (% Basispeak) bei 120°C aufgenommen

428 (10), 426 (7), 410 (17), 396 (36), 394 (19), 392 (16)  
377 (24), 376 (22), 363 (24), 337 (16), 327 (10),  
301 (16), 285 (25), 284 (17), 269 (19), 267 (36),  
266 (19), 265 (16), 255(17), 253 (36), 251 (83),  
249 (34), 239 (24), 225 (26), 213 (31), 211 (36),  
209 (39), 197 (41), 183 (38), 171 (36), 159 (43),  
152 (45), 145 (52), 119 (48), 107 (79), 105 (64),  
91 (96), 81 (98), 69 (98), 55 (100),

UV: (Äthanol, Messung unter Stickstoff)

$\lambda_{\text{max}}$ : 194 ( $\epsilon$  = 10500), 188 ( $\epsilon$  = 7000) nm.

#### 4.3. Inhaltsstoffe aus Stereum subtomentosum

##### 4.3.1. Extraktion der Droge

100g des getrockneten und mittelfein gepulverten Pflanzenmaterials wurden im Soxhlet mit 1 l Äthanol 24 Stunden lang erschöpfend extrahiert. Die Extrakte wurden fast bis zur Trockene eingeeengt, an Celite gebunden und auf eine mit 250 g Celite beschickte Säule (6 cm Durchmesser) gegeben. Darauf wurde mit je 1 l Hexan und Äther eluiert. Die vereinigten steroidhaltigen Fraktionen wurden zur Trockene eingedampft, erneut an Celite gebunden und auf eine mit 150 g Kieselgel beschickte Säule (3 cm Durchmesser) mit Benzol- Aceton- Gemisch 8:2 = V:V eluiert.

100 g Droge ergaben 10,5 g Rohextrakt und 3,4 g Hexan-Äther- Extrakt.

Das Gemisch Stsu 1 konnte bereits nach der ersten Säule in chromatographisch fast reiner Form erhalten werden. Nach Umkristallisation in Äthanol fielen 33 mg farblose Nadeln an.

#### 4.3.2. Eigenschaften des Steroid- oder Triterpengemisches

##### Stsu 1

Weiße Nadeln aus Äthanol

Schmelzpunkt: 174-178°C

Molekulargewichte: 428, 426

##### IR:

730 w, 790 w, 800 w, 820 w, 860 w, 920 w, 930 w,  
940 w, 970 m, 1020 w, 1055 m, 1100 s, 1160 s, 1180 m,  
1230 m, 1380 m, 1400 m, 1420 w, 1460 m, 1510 w,  
1650 w, 2880 s, 2940 s, 2960 s, 3340 s, 3520 s,  
3640 w, 3670 w, 3680 w, 3700 w, 3730 w,  $\text{cm}^{-1}$

MS: m/e (% Basispeak) bei 120°C aufgenommen

428 (10), 426 (8), 410 (18), 396 (36), 394 (19),  
392 (18), 377 (24), 376 (23), 363 (24), 337 (16),  
327 (10), 301 (18), 285 (26), 284 (17), 269 (19),  
267 (36), 266 (18), 265 (16), 255 (17), 253 (36),  
251 (83), 249 (34), 239 (24), 225 (26), 213 (32),  
211 (37), 209 (39), 197 (38), 183 (36), 171 (34),  
159 (43), 152 (47), 145 (53), 119 (48), 107 (79),  
105 (64), 91 (96), 81 (98), 69 (98), 55 (100)

UV: (Äthanol, Messung unter Stickstoff)

$\lambda_{\text{max}}$ : 194 ( $\epsilon$  = 10500), 188,5 ( $\epsilon$  = 7000) nm.

## 5. Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit haben wir uns zum Ziel gesetzt, aus den Fruchtkörpern zweier *Stereum*-Arten die Inhaltsstoffe, welche in größeren Mengen vorhanden sind, zu isolieren und zu identifizieren.

Es konnte festgestellt werden, daß die höchste Konzentration an Inhaltsstoffen sich in der Triterpen-, bzw Steroidfraktion befinden. Ein Triterpengemisch wurde isoliert, dessen Vorkommen in beiden Pflanzenarten nachgewiesen werden konnte. Ein gaschromatographischer Vergleich beider Gemische bewies die qualitative und quantitative Übereinstimmung in der Zusammensetzung. Diese Gemische könnten daher für die Gattung *Stereum* oder für kleinere Sippen innerhalb der Gattung charakteristisch sein. Allerdings ist dieses Gemisch erst in zwei Arten gefunden worden. Der Gedanke liegt jedoch nahe, daß es sich hier um ein taxonomisches Merkmal handelt. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob es auch in anderen *Stereum*-Arten zu finden ist.

Ergosterin, das in Pilzen sehr verbreitet ist, konnte nur aus *Stereum hirsutum* isoliert werden. In *Stereum subtomentosum* konnte dieser Stoff unerwarteterweise nicht nachgewiesen werden. Das von Natori, Yokoyama und Aoshima nachgewiesene Dihydroergosterin (40) ist wahrscheinlich mit der bei uns das Ergosterin begleitenden Substanz mit der Massenzahl 398 identisch, die ebenfalls nur aus *Stereum hirsutum* isoliert werden konnte. Die in Japan untersuchten Drogen enthalten aber offenbar diese beiden Verbindungen im umgekehrten Mengenverhältnis wie die von uns bearbeiteten Chargen. Wir konnten einen wesentlich größeren Gehalt an Ergo-

sterin als an der hydrierten Verbindung feststellen.

Die Einordnung des Stigmasterins in diese taxonomische Untersuchung gestaltet sich etwas schwierig, da es bisher in Pilzen nicht gefunden wurde und wahrscheinlich aus dem Algenbewuchs der Fruchtkörper von *Stereum hirsutum* stammt. *Stereum subtomentosum*, auf dessen Fruchtkörper keine Algen wuchsen, enthält dieses Steroid nicht.

Hirsutsäure, wie sie nach den Arbeiten von Mantle und Mellows (5) aus *Stereum complicatum* isoliert wurde, wird wohl nicht in allen *Stereum*-Arten akkumuliert. Aus diesem Grunde konnten wir es wohl weder in *Stereum hirsutum*, noch in *Stereum subtomentosum* nachweisen. Es läßt sich die Schlußfolgerung ziehen, daß es sich hierbei nicht um eine Substanz handelt, die charakteristisch für die ganze Gattung ist.

## 6. Zusammenfassung

Stereum hirsutum und Stereum subtomentosum wurden auf die in größeren Mengen akkumulierten Inhaltsstoffe hin untersucht.

Aus Stereum hirsutum wurden isoliert:

- 1) Ergosterin: Es konnte mit Hilfe der Massen-, IR- und NMR- Spektren identifiziert werden. Ein Vergleich mit authentischem Material zeigte Übereinstimmung in den IR- und Massenspektren. Die Retentionszeiten der Gaschromatogramme stimmten überein.
- 2) Stigmasterin: Es wurde ebenfalls mit physikalischen Methoden charakterisiert und mit authentischem Material verglichen (Gaschromatogramm, IR- Spektrum)
- 3) Ein Steroid- oder Triterpengemisch: Es besteht aus mindestens drei Haupt- und fünf NebenkompONENTEN. Da nur eine geringe Drogenmenge zur Verfügung stand, war eine präparative Trennung und Strukturaufklärung der einzelnen Komponenten im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

Aus Stereum subtomentosum wurde isoliert:

Ein Steroid- oder Triterpengemisch: Seine Identität mit dem aus Stereum hirsutum isolierten Gemisch wurde gaschromatographisch bewiesen.

In Stereum subtomentosum konnten Ergosterin und Stigmasterin nicht nachgewiesen werden.

Hirsutsäure C konnte weder in Stereum hirsutum, noch in Stereum subtomentosum gefunden werden.

## 7. Literaturverzeichnis

- (1) Pilat, Monographie der europäischen Stereaceen, Hedwigia 70, S. 10-132 (1930)
- (2) N.G. Heatley, M.A. Jennings, H.W. Florey, Brit. J. Exp. Pathology, 28, 35 (1947)
- (3) F.W. Comer, J. Trotter, The structure of Hirsutic acid. X-Ray analysis of the p-Bromphenacylester. Journal of the Chemical Society 13, 11-18 (1966)
- (4) F.W. Comer, F. Capra, J.H. Qureshi, A.I. Scott, The structure and chemistry of Hirsutic acid, Tetrahedron 23, 4761-4768 (1967)
- (5) P.G. Mantle, G. Mellows, Production of Hirsutanes by Stereum complicatum, Trans. Br. mycol. Soc., 61, 513-519 (1973)
- (6) J.H. Birkinshaw, P. Chaplen, W.P.K. Findlay, Biochemistry of the Wood-rotting Fungi, Biochem. J. 66 (1957)
- (7) J.D. Bu'Lock, B. Kaye, A.T. Hudson, New Benzofuranes from Stereum subpileatum, Phytochemistry 10 1037-1046 (1971)
- (8) H. Jahn, Stereoid-Pilze in Europa mit besonderer Berücksichtigung ihres Vorkommens in der BRD, Westfälische Pilzbriefe, Band 8, Heft 4-7 (1971)
- (9) Z. Pouzar, Stereum subtomentosum n. sp. and its taxonomic relations, Ceska Mykol. 18, 147-156 (1964)
- (10) A. Engler, Die natürlichen Pflanzenfamilien, Band 6 (1928)
- (11) M.A. Donk, A conspectus of the families of Aphyllophorales, Personia 3, 199-324 (1964)
- (12) E. Parmasto, Conspectus systematis Corticiacearum, Inst. Zool. et Bot. Acad. Scient. R.P.S.S., Estonicae Tartu (1968)
- (13) J.A. Arx, Lehre der Pilzkunde, (1967)
- (14) H. Kreisel, Grundzüge eines natürlichen Systems der Pilze, Jena (1969)

- (15) R. Neher, Steroid chromatography, Elsevier (1964)
- (16) A.L. Pereda, A. Aguilera, J. Chromatogr. 9, 331 (1962)
- (17) B.V. Milborrow, J. Chromatogr. 19, 194 (1963)
- (18) Spiteller-Friedmann, Massenspektren von Steroiden im Fortschritt der chemischen Forschung 12, 3 (1969)
- (19) G. Spiteller und Egger, Monatsheft Chemie 97, 579 (1966)
- (20) Spiteller-Friedmann, M. und G. Spiteller, J. Org. Mass. Spectrometry 1, 231 (1968)
- (21) W. Neudert, H. Röpke, Steroid- Spektrenatlas, Springer Verlag Berlin, S. 328 ff. (1965)
- (23) W. Neudert, H. Röpke, Steroid- Spektrenatlas S. 335 (1965)
- (24) W. Neudert, H. Röpke, Steroid- Spektrenatlas, Spezifität der IR- Spektren, S. 276 ff.
- (25) D.H. Williams, J. Fleming, Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, Thieme Verlag Stuttgart, S. 41 ff. (1971)
- (26) E. Stahl, Dünnschichtchromatographie, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, S. 302 ff.
- (27) Varian High Solution NMR Spektren Catalog, Nr. 363 (1962)
- (28) Turner, Fungal Metabolites, Academic Press (1971)
- (29) Karrer, Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe, (1958)
- (30) Steinegger- Hänsel, Lehrbuch der Pharmakognosie, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York S. 347 ff. (1968)
- (31) A. Seher, E. Homberg, Fette, Seifen, Anstrichmittel, die Ernährungsindustrie 73, 557-560 (1971)
- (32) Th. Kartnig, G. Mikula, J. Chromatogr. 53, 537-543 (1970)

- (33) D.R. Idler, L.M. Safe, Separation of Steryl Acetats by Silver Ion Chromatography, Steroids 26, 315-324 (1972)
- (34) P.J. Doyle, G.W. Patterson, Triparanol inhibition of Sterol Biosynthesis in *Chlorella Emersonii*, Phytochemistry 11, 1951-1960 (1972)
- (35) H.E. Nordby, S. Nagy, J. Chromatogr. 79, 149 (1973)
- (36) T. Norin, L. Westfelt, Acta Chem. Scand. 17, 1828 (1963)
- (37) R.A. Henry, J.A. Schmit, J.F. Dieckmann, Journal of Chromatographic Science 9 (1971)
- (38) L.R. Snyder, A rapid approach to selecting the best experimental conditions for High-speed Liquid Column Chromatography, Journal of Chromatographic Science 10, 200-212, 369-379 (1972)
- (39) G. Mellows, P.G. Mantle, T.C. Feline, D. Williams, Sesquiterpenoid Metabolites from *Stereum compliatum*, Phytochemistry 12, 2717-2720 (1973)
- (40) S. Natori, A. Yokoyama, K. Aoshima, Distribution of Tetracyclic Triterpenoids of Lanostane Group in the higher Fungi (Basidiomycetes), Phytochemistry 14, 487 (1975)
- (41) L. Lang, Absorption Spectra in the Ultraviolet and visible Region, 3 S. 67,68
- (42) Lansbury, N.Y. Wang, J.E. Rhodes, A convergent stereocontrolled total Synthesis of Isohirsutic Acid, Tetrahedron Letters 20, 2053-2056 (1972)
- (43) Jeol, High Solution NMR- Spectra, Sadtler, Philadelphia 60-218 (1967)
- (44) G. von Unruh, M. Spiteller- Friedmann, G. Spiteller Tetrahedron 26, 3039 (1970)
- (45) G. von Unruh, G. Spiteller, Tetrahedron 26, 3289-3301, 3303-3311, 3329-3346 (1970)

## 8. Lebenslauf

Am 3. Juni 1947 wurde ich, Günther Meier, als Sohn des Bankkaufmanns Kurt Meier und seiner Ehefrau Margarete, geb. Hoyer, in Berlin geboren. Von 1953 bis 1959 besuchte ich die 9. Grundschule in Berlin-Schmargendorf und von 1959 bis 1966 das Friedrich- Ebert Gymnasium in Berlin-Wilmersdorf.

Vom 1. April 1966 bis zum 31. März 1968 war ich Praktikant in der Apotheke am Herrfurthplatz, Berlin-Neukölln, und bestand im März 1968 die Pharmazeutische Vorprüfung. Gleich im Anschluß daran begann ich im Sommersemester 1968 das Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin.

Im Mai 1971 legte ich nach 6-semesterigem Studium an der Freien Universität die Pharmazeutische Prüfung ab. Seit Januar 1972 beschäftige ich mich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Rimpler am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.





